

ao médico assistente. A efetividade na comunicação de alerta críticos em até 15 minutos alcançou 83% (meta 90%), com intervalos que variaram entre 2 e 35 minutos. **Discussão e conclusão:** Os valores críticos dos resultados laboratoriais sinalizam condições graves, e exigem ações imediatas. Quando não há processos padronizados e automatizados, a transmissão dessas informações pode ser lenta, aumentando o risco de atrasos que podem resultar em complicações graves ou até desfechos negativos para os pacientes. Essa integração favorece um ambiente de cuidado centrado no paciente, assim, diante da lacuna encontrada, as ações propostas pretendem melhorar a qualidade do atendimento hospitalar e garantir mais segurança, permitindo que casos urgentes sejam tratados imediatamente.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104220>

ID - 482

CONSTRUÇÃO DE PADRÕES DE REFERÊNCIA DOS PRINCIPAIS ALELOS VARIANTES DO GENE RHD

LBMdO Chagas^a, TB Cuter^b, JS Borges^b, GG Gobo^b, FLS Santos^b, L Castilho^c, RT Calado^a, S Kashima^d, ES Rodrigues^a

^a Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^d Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: A correta determinação dos grupos sanguíneos é essencial para garantir a segurança transfusional, especialmente em pacientes politransfundidos, que apresentam maior risco de aloimunização. Esse risco é particularmente relevante para o sistema Rh, devido à sua complexidade genética e à presença de variantes do gene RHD. A detecção de variantes RHD pode representar um desafio por métodos sorológicos convencionais, que muitas vezes são incapazes de identificá-las com precisão. No entanto, a partir da década de 1990, a genotipagem molecular começou a ser incorporada como ferramenta complementar, permitindo maior precisão na identificação de antígenos eritrocitários. Esta abordagem, é baseada na detecção de variantes de único nucleotídeo (SNVs), e vem sendo amplamente adotada em países desenvolvidos com finalidades assistenciais e investigativas, contribuindo significativamente para a melhoria da prática hemoterápica. Nesse contexto, a utilização de padrões de referência é essencial para a validação e padronização dos testes moleculares, especialmente na identificação de variantes RHD, promovendo maior confiabilidade e acurácia nos resultados. **Objetivos:** Construir padrões de referência de alelos variantes do gene RHD para serem utilizados como controle das reações de genotipagem. **Material e Métodos:** Foram

selecionadas amostras contendo os principais alelos variantes do gene RHD (RHD* Fraco tipo 1 (c.809T>G), tipo 2 (c.1154G>C), tipo 3 (c.8C>G), tipo 4 (c.602C>G) e também os polimorfismos (c.819G>A), (c.1025C>T), (c.1136C>T) além do pseudogene RHDψ. Regiões específicas do gene RHD foram amplificadas por PCR e clonadas no vetor TOPO® TA Cloning®. A confirmação da presença dos alelos clonados foi realizada por sequenciamento de Sanger, assegurando a autenticidade das sequências dos vetores recombinantes. **Resultados:** Foram construídos padrões de referência para dezesseis alelos variantes RHD, abrangendo as regiões: éxon 1 (8>C; 8>G), éxons 4/5 (602>C; 602>G), éxons 4/5 (alelo RHDψ), éxon 6 (809>T; 819>G; 819>A; 845>G; 845>A), éxon 7 (1025>T; 1025>C), éxon 8 (1136>C; 1136>T) e éxon 9 (1154>G; 1154>C) e também um vetor contendo a sequência correspondente ao alelo RHDψ. A construção desses clones possibilitou a criação de um painel de referência abrangente, representativo das principais variantes do gene RHD. Além das variantes RHD* Fraco tipos 1, 2, 3 e 4, a combinação dos vetores também permite a geração de padrões de referência para RHD*DIII, RHD*DAR e RHD*DAU. **Discussão e conclusão:** Os padrões moleculares do gene RHD desenvolvidos, são eficientes controles de referência na detecção de alelos selvagens e variantes genéticas. Representam uma ferramenta valiosa para a padronização e validação de testes de genotipagem, especialmente na identificação de variantes associadas ao sistema Rh. A utilização desses controles pode contribuir para validação dos ensaios moleculares, atuando como controles positivos no monitoramento de reações analíticas. O DNA dos vetores de referência podem ser combinados de diferentes formas possibilitando a geração de painéis de referência para variantes RHD raras, que podem auxiliar em estudos populacionais de indivíduos com perfil genético diversificado, fomentando a implementação de estratégias de suporte transfusional personalizadas e eficazes.

Apoio financeiro: FUNDHERP, CTC (2013/08135-2), INCTC (465539/2014-9), FAPESP (2017/26950-6).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104221>

ID - 1727

CULTURA DE FIBROBLASTOS DE PELE PARA AVALIAÇÃO DE PREDISPOSIÇÃO GERMINATIVA: EXPERIÊNCIA DE UM LABORATÓRIO TERCIÁRIO

GOA Barbosa, RS Kojima, RK Kishimoto, GdSe Silva, FPDs Santos MFMD, Santos, N Hamerschlag, EDRP Velloso

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A cultura de fibroblastos da pele é um método de obtenção de DNA germinativo sem contaminação de sangue periférico. Por isso, é considerada ideal para avaliação de predisposição germinativa de doenças onco-hematológicas¹. O procedimento é feito a partir de material de uma biópsia de pele. A qualidade da amostra é avaliada de acordo com a

quantidade de material e o tempo entre coleta e chegada ao laboratório. Amostras menores que 5 mm³ são consideradas insuficientes, e aquelas recebidas após 48 horas são consideradas fora do tempo de estabilidade. A quantidade de amostra influencia diretamente o tempo de crescimento celular. **Objetivos:** Descrever o processo de cultura de fibroblastos implementado em um laboratório de um hospital terciário especializado em Oncologia e Hematologia, analisar variáveis relacionadas à qualidade das amostras e avaliar a taxa de sucesso do procedimento. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo de 29 amostras submetidas à cultura de fibroblastos no laboratório de citogenética. A cultura foi realizada a partir de fragmento de pele (5 mm³), que foi lavado e fragmentado sob condições estéreis. O material foi distribuído em frascos de cultura T25 e incubado a 37°C com 5% de CO₂. O meio utilizado foi o Amniogrow, trocado periodicamente de acordo com o crescimento celular. Após confluência de 70-80%, as células foram tripsinizadas, lavadas com PBS e centrifugadas. O pellet final foi entregue para extração de DNA. **Resultados:** Foram realizadas 29 culturas a partir de biópsias de pele, sendo 8 provenientes de outros serviços. Das amostras, 20 foram consideradas adequadas, 7 insuficientes e 2 fora do tempo de estabilidade. Vinte e três culturas foram iniciadas no mesmo dia da coleta, 4 em 24h, 1 em 96h e 1 em 142h; estas duas últimas foram consideradas instáveis. Apenas uma cultura (3,4%) não forneceu DNA suficiente. Vinte e cinco casos foram submetidos à análise molecular, dos quais 3 (12%) apresentaram alterações relevantes. Um caso foi analisado por cariótipo convencional e 2 não seguiram para testes adicionais por serem amostras de validação interna. O tempo médio de crescimento celular suficiente para extração foi de 23 dias. Não houve diferença no tempo de crescimento das amostras de pacientes com doenças mieloides (N=12), linfoproliferativas (N=4) e não malignas (N=2) (p=0,9). **Discussão e conclusão:** O estudo reforça que a cultura de fibroblastos de pele é um procedimento factível, com alta taxa de sucesso (96,6%). Apenas uma amostra classificada como insuficiente não apresentou crescimento celular adequado, o que evidencia a importância da coleta adequada. Observou-se que a idade mais avançada pode influenciar o tempo de crescimento celular, em concordância com a literatura. A positividade em 12% das análises moleculares demonstra o valor do procedimento como ferramenta complementar no diagnóstico de predisposição germinativa. A cultura de fibroblastos cutâneos apresenta baixa taxa de falha e, embora demande tempo, oferece material confiável para análise de predisposição germinativa. Reforça-se a importância da implantação do processo com atenção às variáveis pré-analíticas, visando o diagnóstico preciso que impacta diretamente no cuidado aos pacientes e no aconselhamento genético de familiares.

Referências:

DeRoin L, Cavalcante de Andrade Silva M, Petras K, et al. Feasibility and limitations of cultured skin fibroblasts for germline genetic testing in hematologic disorders. *Hum Mutat.* 2022;43(7):950-62.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104222>

ID - 1806

DESCRIÇÃO DE CASO IMUNOHEMATOLÓGICO - IDENTIFICAÇÃO DE ANTICORPO ANTI-FY3 POR MÉTODO SOROLÓGICO

LHC Fedeli, LM Dos Santos, AJ de Carvalho,
AC Franco Marret, JP Binelli, JR dos Santos

Hospital BP, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Relato de estudo imunohematológico, tendo por finalidade compartilhar experiência de identificação de anticorpo Anti-Fy3. **Descrição do Caso:** Paciente: E. V. S. F., 62 anos, feminino, brasileira, diagnosticada como rafia de fístula, enterectomia segmentar e ileostomia. Em 06/02/2025 foram realizados testes pré-transfusionais que apresentaram os seguintes resultados: tipagem sanguínea: O RH(D): Positivo; teste de antiglobulina direto (TAD): Positivo; Eluato: Auto IgG Indeterminada; Pesquisa de anticorpos irregulares (PAI): Positiva em gel LISS Coombs / gel IgG / gel NaCl; identificação do (s) Anticorpo(s) Sérico(s): anticorpo reativo com todas as células do painel; autocontrole positivo em gel LISS e gel NaCl. Fenótipo: C-, Cw-, c+, E-, e+; K-, k+, Kp(a-b+); Jk(a+b+); M+, N-, S-, s+; Fy(a-b-); Le(a- b+); Lu(a-b+); P1+. Aparentemente, parecia se tratar de Auto IgG presente no soro e no eluato, porém um detalhe chamou atenção. A intensidade da auto IgG no eluato era de 2+ em todas as células testadas (gel LISS Coombs) e a intensidade da “auto IgG “ sérica em gel LISS Coombs, variava de 2+ a 3+ em diferentes células, bem como de 4+ em gel NaCl com hemácias papainizadas. O primeiro lote do painel de hemácias utilizados, não apresentava nenhuma célula Fy(a-b-), isso também despertou atenção, já que o paciente apresentava justamente esse fenótipo. Ao testar um novo lote com uma célula Fy(a-b-), verificamos que não houve reação em gel LISS, bem como em gel NaCl. Foram testadas mais seis hemácias Fy(a-b-), todas também se mostraram negativas (gel LISS / NaCl). Realizada aloadsorção, hemácia C- E-; K-; Fy(b+), com o objetivo de verificar a presença de possível aloanticorpo encoberto pelo Anti-Fy3, ao testar o soro aloadsorvido, verificou-se a presença de Anti-C, assim como foi possível descartar demais aloanticorpos. Como resultado final, Liberado Auto IgG indeterminada no eluato (reativo com hemácias C-; Fy(a-b-), além de Anti-Fy3 + Anti-C séricos. **Conclusão:** A presença de células Fy(a-b-) em painéis de hemácias, para identificação de anticorpos irregulares no contexto da população brasileira se mostra de suma importância, já que este fenótipo se apresenta em cerca de 66% em afrodescendentes, sendo possível identificar Anti-Fy3.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104223>

ID – 2514

EOSINOFILIA E SUSPEITA DE SÍNDROME DE DRESS EM VÍTIMA DE TRAUMA CRANIOENCEFÁLICO: UM RELATO DE CASO

CZ Pellon Ferreira, CA de Souza, IB Bini,
JM Teodoro de Souza, MB Batista Stricker,